

ottenuto mediante una iniezione endoperitoneale di Allossana alla dose di 150–200 mg/kg di peso corporeo. L'enzima è stato preparato estraendolo e purificandolo da polveri acetoniche allestite dal fegato subito dopo l'uccisione dell'animale. Su tale metodo si riferirà in altra nota. L'attività enzimatica è stata sagggiata incubando, per lo spazio di tempo di 40 min ed alla temperatura di 38°, il preparato enzimatico su descritto in presenza di substrato specifico (acido grasso), di A.T.P., di Coenzima A, e di idrossilamina. Come substrati si sono impiegati gli acidi butirrico e caprilico. In queste condizioni gli acil-Coenzima A, mano a mano che, per azione degli enzimi attivanti, vengono formati, reagiscono con l'idrossilamina per formare i corrispondenti acidi idrossammici che sono stati determinati per via colorimetrica impiegando il metodo di LIPPMANN e TUTTLE⁷. Numerose prove preliminari ci hanno assicurato che con la tecnica su descritta la formazione di acidi idrossammici è strettamente legata alla presenza di A.T.P. e che non vi ha alcuna formazione di acidi idrossammici per azione delle esterasi (LIPPMANN e TUTTLE⁷). Inoltre l'intensità di formazione di tali acidi, direttamente proporzionale alla quantità di enzima impiegato, è in funzione lineare del tempo.

I risultati ottenuti e le entità statistiche ad essi riferitisi sono stati riportati nella tabella.

Risultati e discussione. L'intensità di azione degli enzimi che, in presenza di A.T.P., catalizzano la formazione degli acil-Coenzima A è stata rapportata sia al peso secco del preparato enzimatico (μM di acido idrossammico formato per 100 mg di peso secco) sia al contenuto di N₂ (μM di acido idrossammico per 100 mg di N₂). Nel primo caso i risultati ottenuti hanno dimostrato che nella ghiandola epatica di ratti trattati con allossana non vi ha alcuna variazione nell'intensità di formazione degli acil-Coenzima A. Una diminuzione invece, sia pur statisticamente non significativa, si riscontra qualora i valori dell'attività enzimatica vengano riferiti al contenuto di azoto. Questo comportamento è dovuto al fatto che nel fegato di ratti allossanati vi ha un aumento del contenuto di azoto determinato, con ogni probabilità, da una alterazione del metabolismo proteico.

Comunque sia i risultati delle presenti ricerche si prestano, a nostro avviso, a convalidare la seguente conclusione: ammesso che nel fegato degli animali diabetici vi sia un aumento dei processi ossidativi degli acidi grassi, ed ammesso che tali processi debbano essere preceduti dalla esterificazione di detti acidi con il gruppo sulfidrilico del Coenzima A, si deve concludere che la ghiandola epatica ottiene una maggior disponibilità di acil-Coenzima A, da convogliare verso la via ossidativa, non tanto aumentando la formazione di detti esteri, ma ricorrendo ad una quota di acil-Coenzima A che si rende disponibile a causa della diminuzione di altri processi che pur implicano l'utilizzazione degli acil-Coenzima A.

C. R. Rossi, C. S. Rossi e
F. Rossi

Istituto di Chimica Biologica e Istituto di Patologia Generale, Università di Padova (Italia), il 18 giugno 1956.

Summary

Liver tissue of rats made diabetic by alloxan treatment show no variation in the production rate of acyl-CoA. The authors suggest that, in animals poisoned with alloxan, increased fatty acid oxidation occurs because there is an availability of acyl-CoA spared in other metabolic processes whose rate is diminished.

Über den Einfluss von Desoxycorticosteron auf Kontraktur und Kaliumfreisetzung durch Acetylcholin an der innervierten und denervierten Skelettmuskulatur

Desoxycorticosteron (DC) ist imstande, eine Reihe der Wirkungen des Acetylcholins (ACh) auf die glatte¹ bzw. quergestreifte Muskulatur² abzuschwächen bzw. in sehr hohen Konzentrationen völlig aufzuheben. Diese Belege sowie die von EICHHOLTZ *et al.*³ mitgeteilte Beobachtung einer lokalästhetischen und kapillarabdichtenden Wirkung des DC weisen auf eine *d*-Tubocurarin-ähnliche gegenüber ACh kompetitiv antagonistische Wirkung des DC hin, die auch verschiedenen anderen Steroidhormonen eigen zu sein scheint². Um Anhaltspunkte bezüglich der Art des Wirkungsmechanismus zu erlangen, wurden in den vorliegenden Untersuchungen die Wirkungen von Desoxycorticosteronglukosid (DCG) auf die Kaliumleerausschüttung sowie Freisetzung von Kaliumionen durch intraarterielle ACh-Injektionen aus der innervierten und denervierten Säugetiermuskulatur unter gleichzeitiger Registrierung der mechanischen Spannungsänderungen der Muskeln studiert. An dieser Versuchsanordnung bewirken depolarisierende wirkende neuromuskulär lähmende Stoffe einen starken Anstieg der Kaliumfreisetzung, während *d*-Tubocurarin und ähnlich wirkende Stoffe die Kaliumionenkonzentrationen unverändert lassen und überdies die Kaliumausschüttung nach depolarisierenden Stoffen abzuschwächen bzw. aufzuheben vermögen⁴.

Die Versuche wurden an isoliert durchströmten, innervierten und chronisch denervierten, hinteren Extremitäten von Katzen in der bereits beschriebenen Weise⁵ durchgeführt. Die Registrierung der Spannungsänderungen der Mm. gastrocnemii erfolgte isometrisch mittels eines Philips-Dehnungsmeßstreifens und Aufzeichnung der Widerstandsänderungen desselben über die Messbrücke eines Sanborn Strain Gage Amplifiers an einem Sanborn Twin Viso Direktschreiber (genaue Angabe der Methodik siehe⁶). Die Bestimmungen der Kalium-Einfluss- und -Ausflusskonzentrationen wurden flammenphotometrisch mit dem Beckman-Flammenphotometer durchgeführt. ACh wurde als Bromid in den zur Aorta führenden Schlauch injiziert; DCG (Ciba) wurde der Durchströmungsflüssigkeit in einer Konzentration von $2 \cdot 10^{-4} M/l$ zugesetzt. Die Versuche wurden bei Durchströmung mit normaler Ringer-Blutverdünnung (5:1) zur Testung der ACh-Empfindlichkeit begonnen und erst im weiteren Verlauf auf die DCG-Durchströmung umgeschaltet. Die Berechnung der nach den einzelnen ACh-Dosen zusätzlich in Freiheit gesetzten Kaliummengen erfolgte nach der in früheren Arbeiten angegebenen Weise⁶. Insgesamt wurden 5 Durchströmungsversuche durchgeführt.

¹ F. GROSS und R. STRAUSS, Helv. physiol. Acta 5, 137 (1947).

² H. HAEFELI, *Die Wirkung von Steroidhormonen auf die durch verschiedene Pharmaka ausgelösten Kontraktionen des Kaltblüttermuskels*, Dissertation, Basel 1954.

³ F. EICHHOLTZ, A. STAAB und R. TAUGNER, Arch. int. Pharmacodyn. 86, 407 (1951). — F. EICHHOLTZ, Klin. Wschr. 28, 423 (1950).

⁴ H. KLUPP, O. KRAUFP, N. HONETZ, W. KOBINGER und M. LUDON, Arch. int. Pharmacodyn. 98, 340 (1954).

⁵ O. KRAUFP, G. WERNER, W. KOBINGER und H. STORMANN, Arch. exp. Path. Pharmak. 226, 301 (1955). — O. KRAUFP, H. STORMANN, B. PILLAT und P. H. CLODI, Arch. exp. Path. Pharmak. 1956 (im Druck).

⁶ O. KRAUFP, H. STORMANN, B. PILLAT und P. H. CLODI, Arch. exp. Path. Pharmak. 1956 (im Druck).

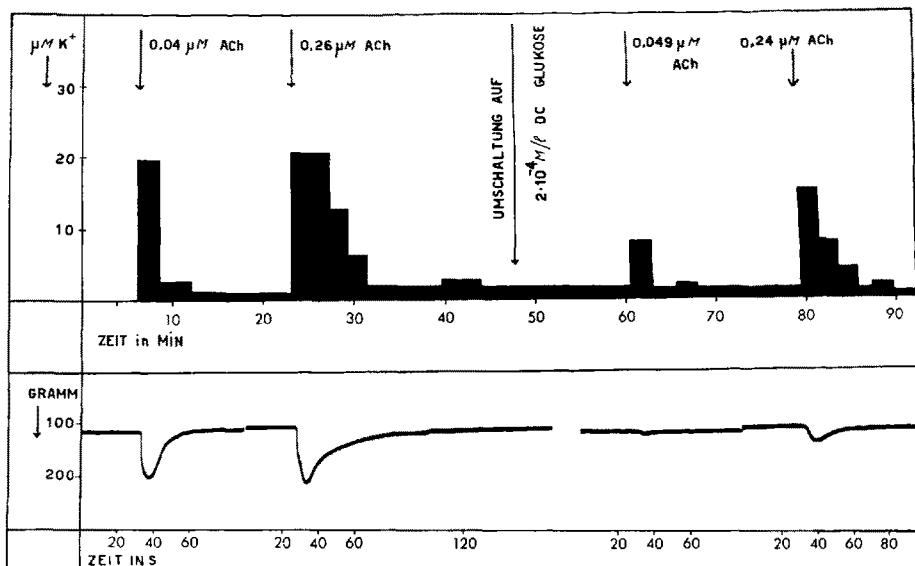


Abb. 1. Spannungsverlauf (untere Kurve) und Kaliumfreisetzung [in $\mu\text{M}/2 \text{ min}$] an der denervierten hinteren Katzenextremität vor und nach Durchströmung (grosser Pfeil) mit $2 \cdot 10^{-4} \text{ M/l DCG}$. Kleine Pfeile: Intraarterielle Injektionen von ACh. Abszisse: Obere Kurve: Zeit fortlaufend in Minuten; untere Kurve: Zeit in Sekunden.

Als Ergebnis konnte festgestellt werden, dass an der innervierten Muskulatur bis zu $20 \mu\text{M}$ ACh weder bei normaler noch bei DCG-Durchströmung eine mechanische Zustandsänderung in Erscheinung trat. Die nach hohen ACh-Dosen (bis $40 \mu\text{M}$) auftretende Kaliumfreisetzung wurde durch $2 \cdot 10^{-4} \text{ M/l DCG}$ deutlich abgeschwächt (vgl. in Abbildung 2 die als Punkte eingetragenen Messwerte mit der Dosis-Wirkungskurve [NI] der Kaliumfreisetzung bei Durchströmung ohne DCG).

An der denervierten Muskulatur trat nach Umschaltung auf zweimal 10^{-4} M/l DCG eine starke Abschwächung des Ausmasses der Kontraktur wie auch der Kaliumfreisetzung nach verschiedenen intraarteriellen Dosen von ACh in Erscheinung, wie aus dem Versuch der Abbildung 1 deutlich erscheinen werden kann. Eine gemeinsame Auftragung der Kaliumfreisetzung vor, bzw. nach Umschaltung auf die DCG-Durchströmung in Form von Dosis-Wirkungskurven (Abb. 2) ergab eine Herabsetzung der Steigung der Regressionslinie (Log. ACh- μM Kaliumionen) bei Anwesenheit von $2 \cdot 10^{-4} \text{ M/l DCG}$ in der Durchströmungsflüssigkeit ($\beta = 54,0$ vor und $21,1$ nach Umschaltung auf DCG), wie dies von uns bereits früher bei Durchströmung mit *d*-Tubocurarin in Konzentrationen von 10^{-4} bis 10^{-5} M/l ($\beta = 18,9$) beschrieben wurde⁷. Eine Berechnung der Streuung der Regressionskoeffizienten bei normaler Durchströmung ($41,6 < \beta < 66,5$) bzw. bei DCG-Durchströmung ($14,3 < \beta > 28,0$) ergab, dass beide Werte signifikant voneinander unterschieden waren ($P < 0,01$).

Weder an der innervierten noch an der chronisch denervierten Muskulatur trat eine Änderung der spontanen Kaliumfreisetzung nach Umschaltung auf Durchströmung mit $2 \cdot 10^{-4} \text{ M/l DCG}$ in Erscheinung.

Die Versuchsergebnisse haben gezeigt, dass DCG hinsichtlich der Beeinflussung der spontanen sowie der nach ACh auftretenden Kaliumfreisetzung ähnlich wie *d*-Tubocurarin wirkt. Die kaliumfreisetzende Wirkung, die depolarisierend wirkenden Muskelrelaxantien eigen ist, fehlt DCG völlig. Die Herabsetzung der durch ACh hervorgerufenen Kaliumfreisetzung erfolgt in einem

weit über den therapeutischen Konzentrationen liegenden Dosenbereich.

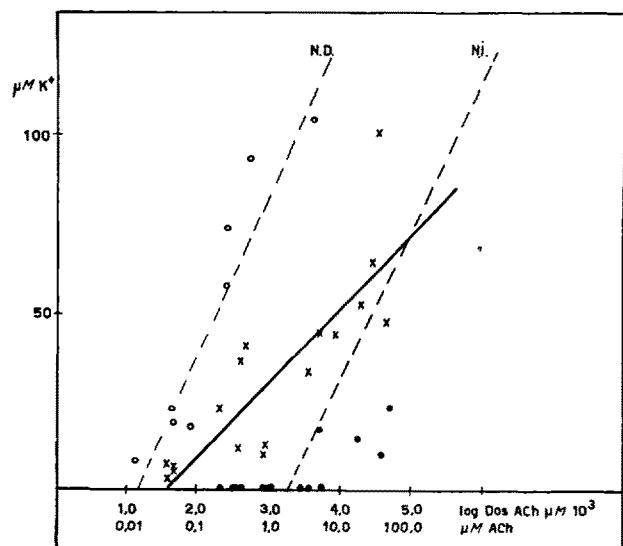


Abb. 2. Dosis-Wirkungskurven der Kaliumfreisetzung durch ACh an der innervierten und der chronisch denervierten Extremität. Ordinate: Kaliumausschüttung in μM . Abszisse: Log. der ACh-Dosen (Nullpunkt des Abszissenmaßstabes bei 10^{-8} M/l ACh). Ringe: Werte an der denervierten Muskulatur vor der Umschaltung; Kreuze: Werte an der denervierten Muskulatur nach der Umschaltung auf $2 \cdot 10^{-4} \text{ M/l DCG}$; Punkte: Werte an der innervierten Muskulatur nach Umschaltung auf DCG. ND und NI Dosis-Wirkungskurven des denervierten bzw. innervierten Muskels bei normaler Durchströmung aus⁸.

Herrn Dr. F. GROSS von der Ciba AG, Basel danken wir für die wertvollen Anregungen sowie für die Überlassung der zu unseren Versuchen benötigten DCG-Mengen.

P. H. CLODI, O. KRAUPP,
B. PILLAT und H. STORMANN

*Pharmakologisches Institut der Universität Wien, den
9. Juni 1956.*

⁷ O. KRAUPP, W. KOBINGER, H. STORMANN und G. WERNER, Arch. exp. Path. Pharmak. 226, 403 (1955).

⁸ O. KRAUPP, G. WERNER, W. KOBINGER und H. STORMANN, Arch. exp. Path. Pharmak. 226, 301 (1955).

Summary

The release of potassium ions from striated muscle, and the changes in mechanical tension developed by the gastrocnemius muscle on intraarterial injection of ACh, were investigated by isolated perfusion of the hind limbs in cats. The reaction of the normal innervated and chronically denervated muscle in the same animal were compared before and during perfusion with $2 \cdot 10^{-4} M/l$ desoxycorticosterone glucoside (DCG). The following results were obtained: after perfusion with DCG no change in the spontaneous release of potassium ions occurred neither on the innervated nor on the denervated muscle. The potassium release following intra-arterial injections of various doses of ACh was significantly reduced on innervated and denervated muscle. On the denervated muscle there was also a considerable reduction of the height of contractures caused by ACh administration. The results make it probable that DCG acts by an inhibition of depolarisation in the same way as *d*-tubocurarine.

Mengen Phenol oder Kresol enthaltendem Handelsheparin. Dagegen verursacht Zugabe von dialysiertem Handelsheparin nur eine unwesentliche Tonusverminderung.

Diskussion. Untersuchungen über den tonusvermindernden Effekt verschiedener Substanzen am histaminkontrahierten Meerschweincheneileum zeigen, dass Zugabe von Tyrodelösung und von frisch gelöster 1%iger Heparinsubstanz keine Dekontraktion verursacht. Im Gegensatz dazu beobachteten wir wie PARROT und LABORDE, dass Handelsheparin eine brüsk eintretende Dekontraktion des Meerschweincheneileums verursacht; eine ähnliche Wirkung ergab sich nach Zugabe von Phenol oder Kresol in Konzentrationen, wie sie im Handelsheparin vorliegen. Die Ergebnisse zeigen, dass nicht Heparin selbst, sondern die den Handelspräparaten zur Konservierung zugesetzten Substanzen die am histaminkontrahierten Meerschweincheneileum beobachteten Wirkungen verursachen.

R. KELLER und W. BURKARD

Institut für Hygiene und Arbeitsphysiologie der Eidgenössischen Technischen Hochschule und Kantonsapotheke, Zürich, den 14. Juli 1956.

Untersuchungen über die Heparinwirkung am histaminkontrahierten Meerschweincheneileum

PARROT und LABORDE¹ fanden, dass eine zur Suspensionsflüssigkeit zugegebene dialysierte Handelsheparinlösung am histaminkontrahierten, isolierten und atropinisierten Meerschweincheneileum dekontrahierend wirkt. Im Zusammenhang mit den Arbeiten der erwähnten Autoren sowie von WERLE und AMANN² über eine Komplexbildung zwischen Heparin und Histamin schienen uns diese Beobachtungen von Interesse, weshalb wir sie nachprüften.

Methodik. Der Suspensionsflüssigkeit (glucosehaltige Tyrodelösung, Volumen 10 ml) eines isolierten, atropinisierten Meerschweincheneileums wird 0,1 µg Histamin (Histamindichlorhydrat) zugegeben und die Histaminkontraktion registriert. Im Verlaufe der Kontraktion haben wir in verschiedenen Versuchen die Wirkung von Handelsheparin (Liquemin Roche, Heparin B. P. Boots, Pularin Evans), dialysiertem Handelsheparin, Heparinsubstanz (Biochemicum Roche; 1%ige Lösung in Tyrode), Tyrodelösung, sowie von Phenol (0,5%) und Kresol (0,3%), die den Handelspräparaten zur Konservierung zugesetzt sind, auf das Meerschweincheneileum verfolgt.

Ergebnisse. Wird im Zeitpunkt der Histaminkontraktion Tyrodelösung (0,5; 1,0; 2,0 ml) zugegeben, so kommt es zu einer unwesentlichen Verminderung des Darmtonus. Die Zugabe von Heparinsubstanz (0,5; 1,0; 2,0 ml) führt ebenfalls zu keiner Dekontraktion des Präparates.

Im Gegensatz dazu kommt es sofort nach Zusetzen von 0,2 ml Handelsheparin zur Suspensionsflüssigkeit zu einer brüsken Tonusverminderung, wie dies von PARROT und LABORDE beschrieben wurde. Fügt man während der Histaminkontraktion Phenol (0,2 ml einer 0,5%igen Lösung in Tyrode) oder Kresol (0,2 ml einer gesättigten Lösung (etwa 0,5%)) von *p*-Chlor-*m*-Kresol zu, so kommt es zu einer ähnlich starken und brüsken Dekontraktion wie nach Zugabe von entsprechende

Summary

Freshly dissolved heparin substance, in contrast to heparin which is commercially available, causes no decontraction of the isolated atropinized guinea-pig ileum contracted in response to histamine. Phenol and Cresol, in the amounts in which they are normally present in commercially available heparin preparations, have the same effect as commercial heparin.

Structure and Functions of the Statocyst in Crabs

In his classical investigation, HENSEN¹ distinguished *thread hairs*, *hook hairs* and *group hairs* on the inside of the statocyst in crabs. In a preliminary study, we were able to show that the *thread hairs* are rotation receptors, acting more or less like the semicircular canals in the vertebrate labyrinth. Bilateral elimination of the *thread hairs* abolished all rotatory eye stalk reflexes, whereas the position reflexes remained unchanged. After additional elimination of the *hook hairs*, these remaining eye stalk reflexes were abolished as well².

In a more elaborate reinvestigation, these results were confirmed and the following new facts were discovered³.

Structure of the statocyst.—According to HENSEN's description, the *thread hairs* should be completely naked and unfeathered, except at their top. Although this may be correct for *Carcinus maenas*, it is not so for *Maja verrucosa*. In the latter animal, the *thread hairs* are feathered along most of their length. In this connection we may recall the fact that in *Carcinus* the *thread hairs* are much more numerous and stand correspondingly closer together than in *Maja* (Fig. 1).

¹ V. HENSEN, Z. wiss. Zool. 13, 319 (1863).

² S. DIJKGRAAF, Exper. 11, 407 (1955).

³ The work was again almost entirely done at the Zoological Station of Naples. My thanks are due to the director, Dr. PETER DOHRN, and his staff for their constant readiness to help. A grant of the Netherlands Organisation for Pure Scientific Research (Z.W.O.) enabled me to carry out this investigation.

¹ J. L. PARROT und C. LABORDE, C. r. Soc. Biol. Paris 145, 1047 (1951).

² E. WERLE und R. AMANN, Naturwissenschaften 42, 583 (1955); Klin. Wschr. 34, 207 (1956); 34, 624 (1956).